MINISTERUL SĂNĂTĂŢII AL REPUBLICII MOLDOVA

UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIŢANU”

L. ANDRIEŞ, D. BARBA, E. BEREZOVSCAIA

DIAGNOSTICUL MALADIILOR ALERGICE: ACTUALITĂŢI ŞI PERSPECTIVE

Recomandări metodice

CHIŞINĂU
Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*
2010

CZU: 616-056-07(076.5)
A 54

Aprobat de Consiliul Metodic Central al USMF *Nicolae Testmiţanu*
(proces–verbal nr 3 din 18.03.2010)

Autori:
Lucia Andrieş - şef laborator Alergologie şi Imunologie Clinică USMF „Nicolae Testemiţanu" dr.hab. med., profesor universitar;
Doina Barba - asistenta universitară a Catedrei de Medicină Internă nr 6, dr.med.;
Elena Berezovscaia - cercetător ştiinţific al laboratorului Alergologie şi Imunologie Clinică.

Recomandările metodice tratează o problemă deosebit de importantă pentru asistenţa medicală a pacienţilor cu maladii alergice. Tehnicile mai performante de diagnostic au completat în esenţă conceptul privind mecanismele patogenetice de realizare a reacţiei alergice care aduc la apel aspecte noi în interpretarea clinică, sugestive atât pentru clinicieni, cât şi pentru medicii de laborator.

Materialele metodice conţin descrierea, destinaţia, controlul rezultatelor, interpretarea clinică a metodelor uzuale şi a celor de elaborare recentă, care, fiind de specificitate şi sensibilitate înaltă, urmează a fi implementate în medicina aplicativă. Concomitent, sunt evaluate metodele de perspectivă în testarea celulelor imunocompetente, a factorilor citokinici, a moleculelor de adeziune şi a substratului genetic, care defineşte apariţia şi evoluţia reacţiilor inflamatorii alergice.

Noul set de instrucţiuni metodice se recomandă pentru instruirea postuniversitara a rezidenţilor, medicilor în cadrul cursurilor de perfecţionare în domeniul alergologiei şi imunologiei clinice, medicinei interne, dar poate fi util şi tuturor specialiştilor, care manifestă interes faţă de acest compartiment al cunoaşterii.

Recenzenţi:

- *Tatiana-Vlada Dumbrava* – şef Catedră Medicină Internă nr. 4 a USMF „Nicolae Testemiţanu", dr.hab.med., profesor universitar
- *Tatiana Culeşin* – specialist netitular al Ministerului Sănătăţii al Republicii Moldova în alergologie, dr.med.

Redactor: *Lidia Câssa*

Machetare computerizată: *Silvia Safaleru*

DESCRIEREA CIP A CAMEREI NAȚIONALE A CĂRȚII

Andrieş, L

Diagnosticul maladiilor alergice: actualități și perspective: Recomandări metodice/ L. Andrieş, D. Barba, E. Berezovscaia; Univ. de Stat de Medicina și Farmacie „Nicolae Testemiţanu". Ch.: CEP "MEDICINA" 2010. – 34 p.

50 ex.

ISBN 978-9975-4134-6-6

CZU: 616-056-07(076.5)
A 54

ISBN 978-9975-4134-6-6

CUPRINS

INTRODUCERE

Extincţia în progresiune a maladiilor alergice a focalizat interesul susţinut al specialiştilor din diferite domenii medicale, care se justifică în primul rând prin faptul, că 30 - 40% din populaţia ţărilor dezvoltate prezintă semne de hipersensibilitate atopică evidentă, ce se manifestă prin astm bronşic la 6 - 10% populaţie, rinită alergică – 12 - 20 %, alergie alimentară - 2 - 3% etc. Multiple cercetări epidemiologice şi clinice au demonstrat că tendinţa de creştere a maladiilor alergice, în special în ţările în curs de dezvoltare, are la origini accentuarea fundalului radioactiv prin radiaţii ionizante, poluarea masivă a mediului ambiant, îndeosebi a aerului, utilizarea fără control a diferitor remedii medicamentoase, subnutriţia şi folosirea pe scară larg a produselor modificate genetic, care în sumă contribuie la sensibilizarea organismului uman.

O problemă extrem de importantă în afecţiunile alergice este diagnosticul precis al stărilor alergice, care este decisiv pentru reuşita tratamentului etiopatogenetic şi pentru care se face uz de imunoterapia alergenspecifică (hiposensibilizare) prin utilizarea alergovaccinurilor.

Aşadar, diagnosticul maladiilor alergice (MA) are drept scop identificarea mecanismului prioritar al bolii şi a spectrului de alergeni cauzali. În funcţie de mecanismul prioritar de dezvoltare distingem 4 tipuri principale de reacţii imunopatologice alergice:

- *tipul 1* – reacţii imediate (anafilactice sau atopice), mediate de anticorpii IgE specifici produşi în timpul răspunsului imun la alergene relevante;
- *tipul 2* – reacţii citotoxice, mediate de anticorpii claselor IgM şi IgG;
- *tipul 3* – reacţii citotoxice mediate de complexele imune;
- *tipul 4* – reacţii de hipersensibilitate de tip întârziat (mediate de sensibilizarea limfocitelor T- cu secreţia unui spectru larg de

interleuchine, care mobilizează alte celule în procesul inflamator alergic).

Actualmente, în diagnosticul alergozelor este utilizat un mare număr de metode clinice şi de laborator, dar acestea sunt de diversă informativitate diagnostică în stabilirea substratului etiologic al reacţiei alergice.

1. CRITERII ŞI METODE DE DIAGNOSTIC AL MALADIILOR ALERGICE IN VIVO

1.1. Metode clinice

Metodele clinice permit localizarea procesului (nas, ochi, tegument, bronhii, tractul gastrointestinal etc.), delimitarea formei nozologice (polinoză, astm bronşic, dermatită etc.), faza maladiei (acută, remisiune).

Anamneza alergologică presupune elucidarea genezei alergologice a maladiei, a formei nozologice, depistarea alergenului etiologic cauzal, stabilirea factorilor de risc, care au contribuit la apariţia maladiei alergice (predispoziţia congenitală, influenţa mediului extern, climatului, factorii fizici, de sezon, etc.), identificarea altor posibile forme de alergie la pacient, excluderea factorilor menajeri (animale domestice, păsări, umiditatea încăperilor, mobilerul capitonat, covoarele etc.), estimarea relaţiei acutizării de alte maladii (ale tractusului digestiv, sistemului endocrin şi nervos etc.), precizarea noxelor profesionale, relaţia maladiei cu ingestia diferitor produse alimentare, aprecierea eficacităţii clinice a administrării remediilor antialergice şi/sau eliminării alergenului.

Investigaţiile clinice se efectuează conform schemei standard cu controlul fizic al pacientului, care permite aprecierea stării generale, caracterului şi prevalenţei afectării tegumentelor şi mucoaselor, precum și stabilirea dereglărilor funcţiei organelor interne şi sistemelor, evaluarea gravităţii modificărilor depistate.

1.2. Metode instrumentale şi funcţionale

1.2.1. Metode instrumentale,

care includ:

- *rinoscopia anterioară,* o tehnică, care permite aprecierea stării mucoaselor cavităţii nazale, depistarea complicaţiilor, de asemenea şi a patologiei, care poate negativ influenţa evoluţia maladiei (polipoza nazală, deviaţia de sept nazal). Ca urmare a reacţiilor alergice, de regulă, se observă edemul cornetului nazal, maculozitatea mucoasei, uneori sunt depistaţi polipi;
- *rinomanometria anterioară* stabileşte intensitatea obstrucţiei nazale în special valoroasă în realizarea testelor de provocare nazală şi pentru aprecierea eficacităţii tratamentului;
- *cercetarea radiologică* şi tomografia computerizată a nasului şi sinusurilor paranazale au un caracter suplimentar şi permit stabilirea particularităţilor anatomice, polipozei, proceselor inflamatorii, tumorilor şi altor patologii ale acestor regiuni.
- *cercetarea funcţiei respiratorii pulmonare* se efectuează pacienţilor cu astm bronşic (AB) sau la suspecţia acestuia pentru descifrarea următoarelor aspecte:
    - depistarea şi determinarea gradului de obstrucţie şi reversibilităţii;
    - aprecierea rezultatelor testelor de provocare bronhomotorie;
    - aprecierea eficacităţii tratamentului antiastmatic;
    - monitorizarea stării pacienţilor cu AB.

1.2.2. Explorări funcţionale

În calitatea de parametri funcţionali, care exprimă mai exact starea bronhiilor mici şi mijlocii, se utilizează cercetări prin *debitul expirator de vârf* (PEF – *peak expiratory flow*) şi *debitul expirator forţat mediu în timpul eliminării porţiunii mijlocii a capacităţii vitale* (MEF), care variază între 25-75%.

Volumul expirator maxim pe secundă (VEMS) în perioada dintre accese corespunde parametrilor normali. După acest indice poate fi apreciat gradul de obstrucţie bronşică:

- indice pragal (limită) de ≥ 80% din valorile normale;
- obstrucţie de grad uşor, care constituie 61-80% din valorile normale;
- obstrucţie de grad mediu, care constituie 41-60% din valorile normale;
- obstrucţie de grad sever - ≤ 40 % din volumul expirator normal.

Indicii cei mai informativi şi mai frecvent utilizaţi în explorarea funcţiei pulmonare cu valorile paramertrilor în norma sunt prezntaţi în tab.1

Tabelul 1

Valorile medii ale indicilor funcţionali ale respiraţiei pulmonare

CPT	Capacitatea pulmonară totală	6000 ml
CV	Capacitatea vitală	4500 - 5000 ml
VR	Volumul rezidual	1000 - 1500 ml
VC	Volumul curent	500 ml
VIR	Volumul inspirator de rezervă	3000 ml
VER	Volumul expirator de rezervă	1000 - 1500 ml
VEMS	Volumul expirator maxim/secundă	3500- 4000 ml
VEMS/CV	Raport Tiffeneau	70-85%
FR	Frecvenţa respiratorie	12 - 18/min.
V	Ventilaţie/min. (VC x FR)	5000 - 9000 ml/min.

VEMS depinde de sex, vârstă şi înălţimea pacientului.

Indicele Tiffeneau esre coraportul dintre VEMS/CV, care în condiţii de normă constituie 0,8.

Evaluarea acestor indici şi a tipurilor de disfuncţie ventilatorie vezi V. Botnaru, 2001.

Pentru estimarea gradului de obstrucţie şi reversibilitate se efectuează următoarele teste cu utilizarea remediilor bronhomotorii, bronholitice, agonişti β_2-adrenoreceptori (salbutamol, fenoterol), preparate bronhoconstrictive, cu efort fizic.

Rolul monitorizării continue cu ajutorul *Peak Flow-meter*-ului este cel care permite pacienţilor să recunoască deteriorarea funcţionala şi să-şi modifice tratamentul de fond întru prevenirea crizelor severe.

1.3. Metode de testare cutanată

Testele cutanate se efectuează prin expunerea persoanei la alergenii suspectaţi şi urmărirea apariţiei reacţiei la locul testării. Pot fi indeplinite numai de către medicul alergolog, care posedă tehnologia de testare a acestei proceduri în condiţii de staţionar sau cabinet. Indiferent de unele inadvertenţe ale testării alergologice cutanate, aceasta din urmă se consideră înalt specifică, informativă şi accesibilă pentru depistarea spectrului de sensibilizare a pacientului cu maladii atopice. La testarea cutanată se utilizează numai alergenele de diagnostic standardizate.

Testele pot fi efectuate prin aplicarea alergenului pe piele, prin scarificare, prick-test şi prin injectare intradermică. Selecţia testului cutanat se argumentează în baza datelor anamnestice, din care să se deducă etiologia maladiei şi intensitatea sensibilizării.

Drept indicaţie pentru testarea cutanată servesc datele anamnezei alergologice, care atestă impactul anumitor alergene sau grupe de alergene în geneza maladiei.

Contraindică testarea cutanată faza acută a maladiei alergice, acutizarea maladiilor cronice concomitente, bolile infecţioase acute intercurente, tuberculoza şi virajul probelor tuberculinice, maladiile cardiace, hepatice, renale decompensate, bolile hematologice, sistemice şi autoimune, tumorile maligne, perioada de medicaţie cu remedii antihistaminice, membrano-stabilizatoare, terapia cu hormoni, bronhospasmolitice, sindromul convulsiv, afecţiunile psiho-neurologice, sarcina, alimentarea la sân, primele 2 - 3 zile ale ciclului menstrual, vârsta de până la 3 ani, prezenţa în anamneză a şocului anafilactic, sindromul Lyell şi Stevens-Johnson.

Probele cutanate diferă după tehnica de realizare.

1.3.1. Testul cu picătură

Testul cu picătură se utilizează în caz de sensibilitate înaltă a organismului uman, mai ales la substanţele chimice şi, uneori, la remediile medicamentoase.

Tehnica şi controlul reacţiei. Pe un segment de piele de pe antebraţ, prelucrat cu etanol, se aplică picătura cu alergene şi, concomitent, în calitate de martor, o picătură de diluent. Controlul reacţiei se efectuează peste 20 min după următoarele criterii (tab. 2):

Tabelul 2

Controlul rezultatelor testului cutanat cu picătura

Reacţia locală a pielii	Aprecierea reacţiei
Corespunde probei martor	Negativă
Hiperemie minoră	Dubioasă
Hiperemie şi prurit	Slab pozitivă
Hiperemie, prurit şi papulă	Moderat pozitivă
Hiperemie, prurit, papulă şi vezicule	Intensiv pozitivă

1.3.2. Testul cutanat prin aplicare

Testul prin aplicare (patch-test) este utilizat pentru diagnosticul alergiei profesionale, a dermatitei de contact etc.

Tabelul 3

Controlul rezultatelor testului cutanat prin aplicarea alergenului

Reacţia locală a pielii	Aprecierea reacţiei
Corespunde probei martor	Negativă (-)
Hiperemie minoră fără edem	Dubioasă (±)
Hiperemie, edem în locul apariţiei	Slab pozitivă (+)
Hiperemie, edem, papulă	Pozitivă (++)
Hiperemie, edem, papulă şi vezicule izolate	Intensiv pozitivă (+++)
Hiperemie, edem, papulă şi vezicule confluente	Extrem de intensă (++++)

Tehnica şi controlul reacţiei. Pe pielea antebraţului prelucrată în prealabil cu etanol de 70° se aplică o meşă de tifon îmbibată cu alergen şi ca martor o altă meşă cu diluent, care se acoperă cu poletilenă şi se fixează cu

plasture. Există şi seturi standardizate pentru efectuarea testului. Citirea rezultatelor se efectuează după cel puţin 1-2 ore. Dacă pacientul acuză disconfort, prurit, etc. în locul testării probele sunt extrase. Reacţia este citită pe parcursul a 72 ore conform următoarelor criterii (tab. 3) :

1.3.3. Probe cutanate cu scarificarea pielii

Probele cutanate cu scarificarea pielii sunt destinate pentru depistarea alergenului cauzal şi a intensităţii de sensibilizare la acesta folosind alergene menajere, polenice, epidermice, fungice, insectigene, latex. Concomitent, pot fi montate până la 10-15 probe.

Tehnica şi controlul reacţiei. Pe un segment de piele al antebraţului, prelucrată în prealabil cu etanol de 70°, se picură cu seringi separate câte o picătură de alergene pentru testare, lichid test-control (martor negativ) şi 0,01% histamină (martor pozitiv), aplicate la distanţa de 4-5 cm unul de altul. Cu scarificatoare sterile se efectuează 2 zgârieturi paralele cu lungimea de 2,5-3 cm şi distanţate între ele la 2 mm. Copiilor li se poate efectua câte o zgârietură. Ultimele sunt efectuate superficial prin alterarea epidermei fără traumatizarea vaselor sanguine. După 20 min se citesc rezultate conform următoarelor criterii (tab. 4):

Tabelul 4

Controlul rezultatelor testului cutanat prin scarificarea

Reacţia locală a pielii	**Aprecierea reacţiei**
Corespunde probei martor	Negativă (-)
Hiperemie fără papulă	Dubioasă (±)
Papulă de 2-3 mm şi hiperemie	Slab pozitivă (+)
Papulă de 4-5 mm şi hiperemie	Pozitivă (++)
Papulă de 6-10 mm, hiperemie şi pseudopodii	Intens pozitivă (+++)
Papulă mai mare de 10 mm cu pseudopodii şi hiperemie	Extrem de intensivă (++++)

La aprecierea testelor cutanate cu scarificarea pielii se va lua în considerare posibilitatea apariţiei *reacţiilor fals pozitive* la:

- lichidul test-control, în cazurile cu hipersensibilitatea tegumentelor cutanate la acţiunea mecanică sau apariţia reacţiei la componentele lichidului test-control (fenol etc.) ;
- alergene, în cazul nerespectării tehnicii de testare cutanată (scarificare cu alterarea vaselor sanguine) şi/sau sensibilitate individuală majoră la acţiunea mecanică;
- utilizarea remediilor medicamentoase şi alimentelor histaminoliberatoare;
- dermografism urticarian.

Reacţiile fals-negative sunt posibile la:

- histamină, în cazurile de minorizare a sensibilităţii individuale la acest preparat sau la efectuarea testelor cutanate în perioada tratamentului cu preparate antihistaminice sau hormonale;
- alergene, când acestea sunt păstrate incorect, la încălcarea tehnicii de inoculare a alergenului (foarte superficial), pe fondul medicaţiei cu preparate antihistaminice, membranostabilizatoare, GCS, bronholitice, la copiii de vârstă mică şi pacienţii vârstnici, în perioada refractară, după reacţia alergică generalizată etc.

1.3.4. Prick-test

Prick-test-ul este unul dintre cele mai utilizate teste cutanate. Este efectuat prin folosirea unui dispozitiv special, care permite standardizarea adâncimii de inserţie a acului la injectare şi exclude strivirea picăturii la injecţie. Picăturile de alergene şi test-control sunt aplicate pe pielea prelucrată cu etanol a antebraţului, ca şi în cazul testului de scarificare. Rezultatele testării sunt verificate peste 15-20 min prin măsurarea diametrului maxim al papulei.

Determinarea reacţiei se efectuează în baza următoarelor criterii (tab. 5):

Tabelul 5

Controlul rezultatelor prick-testului

Reacţia locală a pielii	Aprecierea reacţiei
Corespunde probei martor	Negativă (-)
Hiperemie fără papulă	Dubioasă (±)
Papulă cu diametrul 3-5 mm în locul scarificării, edem observat la întinderea pielii, hiperemie până la 10 mm	Slab pozitivă (+)
Papulă cu diametrul de 5-10 mm înconjurată de un inel de hiperemie	Pozitivă (++)
Papulă cu diametrul de 10-15 mm, hiperemie de peste 10 mm	Intens pozitivă (+++)
Papulă cu diametrul de peste 10 mm, pseudopodii sau papulă de peste 15 mm cu hiperemie de peste 20 mm, reacţii generale	Extrem de intensivă (++++)

În cazuri rare sunt observate reacţii întârziate. În alergia insectigenă citirea reacţiei se efectuează şi peste 6, 12, 24, 48 ore. Cauzele rezultatelor fals pozitive şi fals negative sunt identice celor atestate în proba cu scarificare.

1.3.5. Probe intradermice

Probele intradermice sunt efectuate, în special, cu utilizarea alergenelor infecţioase (bacterii, fungi). Cu alergenele neinfecţioase ele se pot monta în cazul reacţiilor negative sau dubioase la testele prin aplicare sau cele cu scarificare şi cu o anamneză pozitivă evidentă la alergenul dat.

Tehnica şi controlul reacţiei. Pielea antebraţului sau spatelui se prelucrează în prealabil cu etanol de 70°, după care cu o seringă tuberculinică sau insulinică se inoculează câte 0,05 – 0,1 ml de alergen. Alergenul inoculat intradermic trebuie să fie de o concentraţie de 10 ori mai mică decât cea utilizată la testarea prin scarificare (1:10000, 1:1000, 1:100, 1:10). În calitate de martor se inoculează intradermic lichidul test-control şi soluţia de histamină prin scarificare. Rezultatele sunt citite peste 20 min, la 24-48 de ore sau chiar şi la 72 ore după următoarele criterii (tab. 6) :

Tabelul 6

Controlul rezultatelor testului intradermic cu alergene:

Reacţia locală a pielii	Reacţia locală a pielii	Aprecierea reacţiei

la 20 min	peste 24-48 ore	
Corespunde probei martor	Corespunde probei martor	Negativă (-)
Reţinerea resorbţiei papulei	Hiperemie slabă fără infiltraţie	Dubioasă (±)
Papulă de până la 4-8 mm înconjurată de o zonă de hiperemie	Hiperemie şi infiltrat de 5-10 mm	Slab pozitivă (+)
Papulă de până la 9-15 mm înconjurată de o zonă de hiperemie	Hiperemie, infiltrat de 11-15 mm	Pozitivă (++)+
Papulă de până la 16-20 mm, cu pseudopodii şi înconjurată de o zonă de hiperemie	Hiperemie, infiltrat de 16-20 mm	Intensiv pozitivă (+++)
Papulă de peste 20 mm cu pseudopodii, limfangită şi vezicule	Hiperemie, infiltrat de peste 20 mm, posibil şi vezicule	Extrem de intensivă (++ ++)

La efectuarea probelor intradermice cu alergenele neinfecţioase sunt utilizate doze de 0,02 ml. Testele intradermice sunt mai puţin specifice şi deseori dau rezultate fals pozitive. Concomitent ele pot fi însoțite de complicaţii, de aceea numărul alergenelor nu trebuie se depăşească cifra de 4-5.

1.3.6. Titrarea alergometrică

Titrarea alergometrică (testarea cu diverse soluţii de alergene) se utilizează pentru identificarea sensibilităţii individuale a pacientului şi determinarea dozei iniţiale pentru efectuarea imunoterapiei alergenspecifice. Titrarea se efectuează prin inocularea intradermică a diferitor concentraţii de alergen în volum de 0,002 ml, a histaminei (0,01%) şi lichidului test control. Diluţia primară a alergenului este de 10^{-8}, iar cea finală – 10^{-4}. Dacă reacţia este negativă, concentraţia preparatului se majorează secvenţial până la obţinerea rezultatului pozitiv.

1.4. Metode de provocare

Testele de provocare sunt mai veridice şi permit contactul organului de şoc cu alergenul respectiv. Sunt utilizate în cazul când s-au atestat divergenţe între datele anamnestice şi rezultatele testărilor cutanate efectuate de către medicul alergolog în condiţii de staţionar sau cabinet. Testele de provocare cu alergene (în special cele de inhalare) pot fi practicate doar în cazul când nu se pot aplica alte tehnici diagnostice şi numai având la mână toate mijloacele şi măsurile de intervenţie de urgenţă, deoarece sunt posibile reacţiile anafilactice, despre care pacientul trebuie se fie informat.

În funcție de tipul alergenului şi metoda de inoculare în organism, distingem teste de provocare nazală, conjunctivală, inhalată, sublinguală şi orală. Contraindicaţiile pentru efectuarea lor sunt aceleaşi ca şi la testarea cutanată.

1.4.1 Testul conjunctival

Testul conjunctival de provocare se efectuează pentru inducerea conjunctivitei alergice cu aeroalergeni în cazul divergenţelor dintre datele anamnestice şi rezultatele altor metode de diagnostic. În sacul conjunctival se picură lichidul test control. În absenţa reacţiei se picură consecutiv câte 1 picătură de soluţie alergenică în concentraţii de la 1:2048, 1:1024, 1:512 până la 1:2 cu intervale de cel puţin 20-30 minute. Testul cu concentraţii majore se efectuează numai în absenţa reacţiei la diluţia precedentă. Reacţia se consideră pozitivă la apariţia simptomelor de conjunctivită. În cazul reacţiei pozitive conjunctiva este spălată cu soluţie fiziologică şi se picură 0,1% de epinefrină.

1.4.2. Testul nazal

Testul nazal se efectuează cu alergene menajere, epidermice, polenice, bacteriene pentru diagnosticul rinosinuzitei, traheitei, bronşitei alergice, astmului bronşic în stadiu remisiv, în caz de incertitudine a diferitor teste, de polisensibilizare şi la necesitatea selecţiei alergenului prioritar pentru terapia

alergenspecifică. În cavitatea unei narine se instilează 1 picătură de lichid test control. În absenţa reacţiei în cealaltă narină se introduce consecutiv câte 1 picătură de alergen în diluţia de 1:100, 1:10 şi alergen nativ la intervale de 20-30 minute, în absenţa reacţiei la doza precedentă. Reacţia se consideră pozitivă la apariţia rinitei cu utilizarea posibilă a rinoscopiei sau rinomanometriei.

1.4.3. Testul prin inhalare

Testul prin inhalare se utilizează la pacienţii cu astm bronşic. Indicaţiile principale pentru efectuarea lui sunt: depistarea alergenelor etiologic importante, sensibilitatea individuală, aprecierea eficacităţii medicaţiei administrate, stabilirea factorilor nespecifici, care conduc la bronhospasm, aprecierea utilităţii profesionale a pacientului (aprecierea bronhospasmului latent). Testul cu alergene menajere, epidermale, polenice, bacteriene se practică începând de la vârsta de 4-5 ani în cazurile rezultatelor negative ale testului nazal sau la discordanţa datelor anamnezei cu rezultatele testării cutanate. Cercetările se efectuează rar, în faza de remisiune a afecţiunii, în condiţii de staţionar. Dacă o permite starea pacientului, cu 24 ore până la cercetare se anulează administrarea bronhodilatatoarelor, agoniştilor β_2-adrenoreceptori, a blocatorilor receptorilor pentru histamină H_1. Înainte de testare se execută spirografia cu înregistrarea capacităţii respiratorii funcţionale şi calcularea acestui parametru după prima secundă. Se calculează de asemenea coeficientul Tiffeneau care la persoanele aparent sănătoase constituie 60-80%. Ulterior bolnavul respiră prin inhalator primar soluţia de control, apoi soluţia alergenică, începând cu doze minime de concentraţie până la cele care suscită o reacţie evidentă. De fiecare dată este înregistrată spirograma şi, dacă capacitatea respiratorie funcţională şi coeficientul Tiffeneau se diminuează cu 20 %, atunci proba se consideră pozitivă.

1. 4. 4. Testul sublingual

Testul sublingual este utilizat pentru diagnosticul alergiei alimentare şi medicamentoase, la indicaţii strict necesare, cu respectarea condiţiei principale de testare prin provocare (staţionar sau cabinet alergologic). Alergenul se aplică pe mucoasa sublinguală. În cazul alergiei alimentare se utilizează produsele naturale în diluţia de 1/10, a celei medicamentoase – de 1/8–1/4 a dozei unitare de substanţă dizolvată. Testul se consideră pozitiv la apariţia în zona sublinguală a hiperemiei, edemului, pruritului, asociate concomitent cu accelerarea pulsului, erupţie cutanată, strănut, tuse etc.

1.4.5. Testul oral cu alergene alimentare

Testul oral cu alergene alimentare se utilizează pentru diagnosticul alergiei alimentare. Cu 2 săptămâni înainte de testare din raţie se exclude produsul alimentar presupus a fi cauzal. Dimineaţa pe foame pacientul înghite o capsulă gelatinoasă care conţine 8 mg de alergen alimentar, apoi urmează monitorizarea pe parcursul a 24 ore a stării pacientului. Dacă simptomele alergiei sunt absente, testul se repetă folosind 20 mg de alergen cu monitorizarea stării pacientului timp de 24 ore. Consecutiv se mărește doza alergenului până la 8000 mg, ceea ce corespunde cu 100 g de produs alimentar. În lipsa reacţiei şi la 8000 mg de alergen alimentar se consideră că pacientul nu este alergic la produsul testat. În calitate de alergene sunt utilizate produsele alimentare uscate sau liofilizate: laptele uscat, praful din ou, făina, nucile, carnea etc.

Copiilor mici alergenul alimentar presupus li se suplimentează în raţie. Schema de realizare este aceeaşi, doar că dozele utilizate sunt 8-2000 mg. Testul este contraindicat pacienţilor cu reacţie alergică severă în anamneză la acest produs alimentar.

1.5. Testul de eliminare

Testul de eliminare se utilizează pentru diagnosticul alergiei alimentare şi medicamentoase, deși poate fi utilizat şi la stabilirea altor forme de alergie.

Testul este bazat pe aprecierea stării pacientului după suspendarea contactului cu alergenul dat. În calitate de alergene sunt utilizate produsele naturale. Cu 2-3 zile înainte de testare din raţia pacientului se exclude produsul, care urmează a fi cercetat. Ulterior din nou se introduce acest produs în raţia pacientului cu aprecierea stării generale a organismului şi organului de şoc. Proba se consideră pozitivă la apariţia reacţiei în organul de şoc pe parcursul unei ore.

1.6. TESTUL LEUCOCITOPENIC

Testul leucocitopenic se utilizează pentru diagnosticul alergiei alimentare, uneori şi a celei medicamentoase. În condiţiile unei diete de eliminare (foame) pe parcursul unei ore se determină repetat cantitatea leucocitelor în sânge. Ulterior se inoculează alergenul, iar după 30, 60 şi 90 minute se numără leucocitele. Minorizarea cantităţii lor sub $1 \cdot 10^9$/l se consideră drept reacţie pozitivă.

1.7. TESTUL DE INHIBIŢIE A MIGRAŢIEI NATURALE A LEUCOCITELOR (TIENL) IN VIVO

Testul se bazează pe apariţia inflamaţiei alergice a mucoasei cavităţii bucale la contactul repetat cu medicamentul incriminat, situaţie în care limfocitele sensibilizate produc limfokine ce influenţează migrarea granulocitelor, monocitelor, macrofagelor (celule indicator).

Indicaţiile pentru realizarea TIENL:

- Intoleranţa unor remedii medicamentoase în anamneză;
- Prezenţa maladiilor atopice care indică o medicaţie specifică;
- Confirmarea alergiei medicamentoase în clinica maladiilor profesionale.

Condiţii de testare:

- cu 2-4 săptămâni până la cercetare se anulează terapia cu corticosteroizi şi citostatice, remediile antihistaminice - cu 4 zile, ketotifenul sau zaditenul - cu 2 săptămâni;

- În timpul testului este interzis consumul de alimente, nu se consumă lichide, alcool, tutun;
- În ziua testului sunt anulate toate procedurile curative, inclusiv şi medicamentele;

În ziua efectuării testului alimentarea, spălarea dinţilor se poate efectua cu cel puţin o oră înaintea procedurii.

Contraindicaţiile TIENL:

- Stadiul acut al inflamaţiei mucoasei cavităţii bucale;
- Absenţa totală a dinţilor;
- Maladiile alergice acute.

Metodologia testării. Peste o oră după alimentare pacientul minuţios îşi clăteşte cavitatea bucală timp de 2 minute. După alte 30 min pacientul îşi clăteşte gura cu soluţie izotonică de clorură de sodiu timp de 2 minute, care este colectată într-un pahar (nr.1) - porţia control. Peste 15 minute procedura de spălare a cavităţii bucale se repetă cu 10 ml de soluţie fiziologică care conţine alergenul diluat - remedii medicamentoase solubile în apă: penicilină, cefalosporine - câte 1 mg/ml, preparate antibacteriene din alte grupe chimice - 10 mg/ml, sulfanilamide, antiinflamatorii nesteroide, anestezice locale -100 mg/ml. Dacă bolnavul prezintă în anamneză reacţii anafilactice de la utilizarea remediilor medicamentoase, atunci, indiferent de preparat se utilizează concentraţia de 1 mg/ml. Lichidul colectat în paharul 2 nu se cercetează. Peste 15 şi 30 min procedura se repetă cu sol. izotonică în volum de 10 ml, recoltând lichidul în păhărelele 3 şi, respectiv, 4. După agitare din păhăruţele 1, 3, 4 se colectează pe o lamă câte 0,02 ml şi se adaugă câte 0,04 ml soluţie genţian violet, iar peste 5 minute numărul leucocitelor se apreciază în camera Goreaev în 100 de pătrate mari şi se calculează cantitatea într-un mm^3. Indicele migraţiei leucocitelor în cavitatea bucală se calculează după formula: IE=(Nc1-Np)/Nc x 100%, unde Nc este cantitatea leucocitelor (neutrofilelor) în paharul nr. 1, Np - cantitatea leucocitelor în păhărelele nr. 3

şi 4. Testul este pozitiv la reducerea numărului de celule conform indicelui de migraţie cu 30% şi mai mult în paharele cu nr. 3 şi/sau 4.

2. Criteriile şi metodele de diagnostic *in vitro* al maladiilor alergice

2.1 Metodele de laborator clinic

Metodele de laborator permit diagnosticul diferenţial al presupusei alergopatologii, determinarea gradul de severitate a maladiei la pacient, de asemenea ajută la depistarea complicaţiilor atât a maladiilor, cât şi a tratamentului administrat. În acest scop sunt utilizate următoarele metode:

- hemoleucograma,
- urograma;
- analiza biochimică a sângelui;
- cercetarea fracţiilor proteice;
- cercetarea citologică a secretelor nazale, frotiului sau spălăturilor de pe conjunctivă;
- analiza sputei;
- cercetarea bacteriologică a eliminărilor din cavitatea nazală, orofaringiană, de pe conjunctive, a sputei şi elementelor dermice etc.;
- probele reumatice;
- cercetarea profilului hormonal: cortizol, ACTG, T3, T4, TSH;
- coprograma;
- cercetările parazitologice (coproovocistoscopia, depistarea anticorpilor la antigenele parazitare);
- cercetarea citologică a bioptatului pielii (la indicaţie);
- cercetările virusologice pentru depistarea antigenelor virale şi anticorpilor respectivi (la indicaţie).

Actualmente, a crescut evident interesul medicilor pentru metodele de diagnostic *in vitro* al maladiilor alergice, graţie specificităţii înalte şi standardizării acestora. Aceste tehnici se aplică în depistarea anticorpilor

specifici, modificării elementelor celulare, citochinelor şi a genelor care le codifică.

Principalele avantaje ale metodelor specifice de diagnostic *in vitro* sunt:

- Inofensivitatea pentru pacient;
- Studiul concomitent al unei game largi de alergeni ;
- Efectuarea cercetării în perioada acutizării maladiei şi pe fundalul medicaţiei antialergice.

În anumite cazuri, este preferabil anume diagnosticul alergologic de laborator, mai ales când e vorba de:

- copii de vârstă mică;
- maladie ce evoluează fără perioade de remisiune sau în perioada de acutizare a bolii;
- imposibilitatea de a anula administrarea remediilor antidepresive, antihistaminice etc. (excepţie fac GCS, la utilizarea cărora sunt posibile rezultate fals negative ale cercetărilor de laborator);
- reactivitate a modificată a pielii, dermografism urticarian;
- prezenţa în anamneză a reacţiei anafilactice sistemice (şocul anafilactic);
- maladii dermatologice cu erupţii cutanate (eczemă, urticarie etc.).

Apelarea la testele sanguine este argumentată în cazul:

- afecţiunilor dermatologice (eczemă, urticarie) care fac dificilă interpretarea testelor cutanate;
- când nu se poate stopa medicaţia cu antihistaminice sau antidepresive triciclice, care blochează sau diminuează reacţia faţă de o substanţă, chiar dacă o persoană este alergică la acea substanţă;
- când bolnavul a prezentat o reacţie alergică severă (anafilaxia);
- când testele cutanate se arată pozitive la multiple alimente.

2.2. TESTAREA STATUTULUI IMUN

Testarea statutului imun include un şir de teste imunologice de laborator pentru determinarea imunităţii celulare şi umorale. Recunoaşterea alergenului de către celulele imunocompetente şi reacţia alergică ulterioară induc activarea sistemului imun. Pentru testarea gradului de activare sunt efectuate cercetări asupra morfologiei şi funcţiei diferitor compartimente ale răspunsului imun. Sunt aplicate testele pentru aprecierea populaţiilor şi subpopulaţiilor de limfocite T şi B (imunofluorescenţa indirectă şi flaucitometria), mediatorii inflamaţiei alergice şi citochinelor – IL-4 (activarea sintezei IgE), IL-10, IL-5, IFN-gama (metoda imunoenzimatică), determinarea concentraţiei de imunoglobuline serice de clasele M, G, A (metoda imunodifuziunii radiale în gel, ELISA, nefelometria), de complement (nefelometrie), complexe imune circulante (nefelometrie). Peste 6-18 ore după reacţia cu alergen pe limfocitele sensibilizate se intensifică expresia receptorilor pentru IL-2, nivelul căreia poate fi apreciat cu anticorpi anticlonali anti-CD25. În acest scop poate fi apreciată pe limfocite prezenţa altor molecule de activare - CD69, CD71 (activarea limfocitelor B). La stimularea limfocitelor cu alergeni se intensifică sinteza IL-5, IL-4, IFN-gama, dar nu şi a IL-2 şi FNT-alfa.

Importantă este determinarea celor două tipuri de limfocite T (Th 1 şi Th 2), a profilului de citochine ale acestora, care suportă modificări în reacţiile alergice. Pentru reacţiile atopice este caracteristic disonanta acestor 2 subpopulaţii limfocitare. În procesul de monitorizare este testat numărul moleculelor de identificare a celulelor imunocompetente, gradul de maturitate şi activitatea lor funcţională la diverse etape de dezvoltare a reacţiei alergice. În acest plan, mari perspective sub aspectul semnificaţiei diagnostice se atribuie limfocitelor T-reglatoare (CD4+CD25+), considerate actualmente în calitate de marcheri cu rol primordial în corecţia balanţie de limfocite Th1 şi Th2, antrenate în incitarea sau inhibiţia hipersnsibilităţii atopice. Atenţie

deosebită se acordă Ac MFoxp3 pentru testarea fluometrică a limfocitelor T-reglatoare.

2.2.1. Imunofluorescenţa indirectă

Este o tehnică ce utilizează anticorpi monoclonali anti-CD şi microscopul cu luminescenţă sau un alt dispozitiv pentru depistarea populaţiilor şi subpopulaţiilor limfocitare. Metodologia testării prin imunofluorescenţă este uşor de efectuat şi nu necesită aparataj costisitor, dar aceasta este subiectivă în determinarea intensităţii luminescenţei fluorocromilor. Actualmente, în instituţiile medicale pentru testarea imunităţii celulare se utilizează metode obiective de delimitare şi numărare a populaţiilor de celule prin aplicarea metodelor performante.

2.2.2. Flaucitometria în flux

În majoritatea laboratoarelor clinice pentru a determina antigenele de suprafaţă ale limfocitelor se foloseşte sânge integru. Metoda se realizează după cum urmează: 1) la un volum mic de sânge se adaugă anticorpi monoclonali etichetaţi cu fluorocromi, 2) după incubarea necesară pentru fixarea anticorpilor la antigenele de suprafaţă a celulelor sunt distruse celulele roşii din sânge şi 3) se efectuează analiza compoziţiei celulare a probei prin citometria în flux.

Citometria în flux foloseşte principiul de difuziune a luminii, a luminii de excitaţie şi a emisiilor de molecule fluorocrom pentru a genera date specifice multiparametriale despre celulele situate în intervalul dimensiunilor cu diametru 0.5-40 μm. Laserele sunt cel mai adesea folosite ca sursă de lumină în citometria de flux.

Rezultatele pot fi exprimate în valori absolute şi relative ale numărului de limfocite a diferitor populaţii. La evaluarea datelor obţinute trebuie să se ţină seama de valorile normale, care depind de vârstă, sex şi rasă. O modalitate uşoară pentru a verifica fiabilitatea rezultatelor este, că abundenţa relativă a populaţiilor majore de limfocite (limfocitelor T-, B-, NK) în sumă

trebuie să fie de 100%. La adulţi în normă, aproximativ 70% din sânge sunt limfocite T, în timp ce raportul dintre CD4/CD8 este de regulă de 1,5 - 2, restul 30% de limfocite sunt cele B- şi NK.

În reacţiile alergice cele mai tipice modificări ale imunităţii celulare sunt: scăderea numărului absolut şi relativ de limfocite T (fenotipul CD3+CD8+), majorarea cantităţii de limfocite T activate (HLA-DR+, CD25+).

2.3. Analiza radioimună (RIA)

Poate fi utilizată pentru detecţia IgE totale în serul sanguin al pacienţilor. Cantitatea antigenului cunoscută se amestecă cu concentraţiile cunoscute de anticorpi standard marcaţi cu izotopi radioactivi şi mostra de cercetare (care conţine titre de IgE necunoscute). Concentraţia anticorpilor în serul cercetat este determinată după nivelul radioactivităţii complexelor imune.

Analiza radioimună (RIA) posedă specificitate şi sensibilitate echivalentă cu cea a metodei ELISA, dar are şi dezavantaje considerabile:

- radioactivitate;
- problema utilizării deşeurilor radioactive;
- necesitatea spaţiilor de amenajare specială;
- aparataj şi reagenţi costisitori;
- cercetare de lungă durată;
- standardizare dificilă,dată fiind perioada lungă de semiviaţă a radioizotopilor etc.

Aceste inadvertenţe au suscitat elaborarea unei game largi de metode alternative, care folosesc diferite alte principii fizice pentru determinarea cantitativă a marcherilor.

2.4. Testul ELISA

Unul dintre cele mai uzuale teste de screening în determinarea stărilor de sensibilizare a organismului uman este stabilirea concentraţiei de IgE

totale în serul sanguin. Testul este bazat pe metoda imunoenzimatică cu utilizarea diferitor concentraţii standarde de IgE. Deosebit de important este monitoringul nivelului de IgE pe parcursul evoluţiei maladiei. La interpretarea rezultatelor de cercetare a IgE totale este necesar să se ia în calcul un şir de particularităţi:

- majorarea nivelului de IgE totale în serul sanguin poate fi indusă nu numai de atopie, ci şi de un şir de alte maladii, inclusiv invaziile parazitare, imunodeficienţa IgA, aspergiloza bronhopulmonară etc.;
- concentraţia normală a IgE în serul sanguin nu indică absenţa sensibilizării. Circa 1/3 din pacienţii cu maladii atopice conţin valori normale de IgE totale cu variaţii ale parametrului de 30-100 KU/l;
- la sensibilizarea la un (sau câteva) alergene concentraţia IgE totale poate fi normală, iar a IgE specifice este majorată;
- concentraţia IgE totale în serul sanguin poate avea indici normali şi în cazul stărilor inatopice de caracter nonimun, în urticaria cronic recidivantă.

În zonele endemice pentru helmintoze nivelul normal al IgE totale (100 KU/l) poate fi mai mare.

Pentru identificarea IgE specifice se aplică pe larg tehnica ELISA, metodă caracterizată prin sensibilitate (>90%), specificitate şi eficacitate remarcabile. Testul se efectuează atât cantitativ (în unităţi convenţionale), cât şi semicantitativ (reacţia fiind apreciată în serul pacienţilor în intervalul a 4 clase). Datele obţinute caracterizează nivelul de sensibilizare a pacientului la diverse alergene (antigene).

Pentru testarea IgE alergenspecifice, reieşind din anamneza alergologică, se formează setul de godeuri cu alergene incriminate în posibila inducţie a reacţiei alergice. Acest sistem de analiză prezintă o grupă de reacţii, în care anticorpii (Ac) din proba testată se leagă specific cu reactantul imobilizat, formând complexul imun Ag-Ac imobilizat. Pentru depistarea acestui complex se suplimentează un al doilea Ac etichetat cu o enzimă, care este activă atât imunologic, cât şi enzimatic, ea reacţionând cu complexul

imobilizat şi substratul enzimei utilizate. Dacă se face uz de peroxidază, se utilizează apa oxigenată şi TMB. Oxigenarea TMB modifică culoarea lichidului din godeu, iar la stoparea reacţiei lichidul se colorează în galben-oranj. Intensitatea colorării se corelează direct cu titrul anticorpilor din serul testat. În cazul absenţei Ac respectivi lichidul va rămâne incolor şi transparent. Testul este utilizat în cele mai diverse forme nozologice de alergie de cauză menajeră, polenică, epidermică, alimentară, medicamentoasă, bacteriană, fungică etc.

Putem menţiona cu veracitate, că testarea imunoenzimatică are un şir de priorităţi comparativ cu probele cutanate:

- depistează numai anticorpii IgE şi IgG alergenspecifice;
- permite depistarea Ac specifici de concentraţie minoră, care nu poate fi apreciată prin metode biologice *in vivo*;
- se pot identifica concomitent alergeni cauzali de un larg spectru, inclusiv la copii cu vârsta de până la 3 ani, fără risc de apariţie a complicaţiilor. Metoda este stabilă, standardizată şi posedă specificitate şi sensibilitate înaltă;
- depistarea IgE alergenspecifice la unul din alergeni indică doar sensibilizarea organismului şi nu argumentează, că anume acesta este cauza maladiei alergice (heterogenitatea antigenică a alergenelor);
- rezultatul negativ al cercetării la IgE specifică poate fi asigurat de strategia screening-lui (absenţa testului la alergenul dat). Absenţa IgE specifice în serul sanguin nu exclude implicarea în mecanismul patogenetic IgE-dependent a reacţiei alergice graţie posibilei sinteze locale de IgE sau a legării IgE sintetizate în ţesuturi, care se poate realiza fără modificarea concentraţiei de IgE specifice în sângele periferic;
- anticorpii altor clase, în special IgG (IgG4) specifice la alergen în anumite condiţii pot fi cauza rezultatelor fals negative;
- nivelele majorate de IgE alergenspecifice caracterizează prezenţa sensibilizării înalte numai la alergenul dat;

- rezultate fals pozitive la IgE specifică pot aparea frecvent în cazul unor concentraţii majore de IgE totale prin care creşte posibilitatea de legare nespecifică a IgE cu alergenul;
- rezultate cantitative identice la determinarea IgE specifice pentru diferite alergene nu corespunde importanţei lor clinice echivalente;
- concluzia definitivă şi interpretarea rezultatelor cercetărilor de laborator trebuie efectuată prin compararea rezultatelor testărilor *in vitro* cu tabloul clinic şi datele anamnezei alergologice.

În ultimii ani au fost acumulate date despre rolul diferitor citochine (IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, etc.) cu funcţie de factori stimulanţi ai sintezei IgE-alergenspecifice în evoluţia reacţiei alergice. Testarea acestor citochine este de asemenea realizată prin metoda imunoenzimatică.

2.5 Testul RIDA Allergen Screen

Testul este bazat pe principiul metodei de imunoblotting. Alergenele specifice sunt ataşate pe suprafaţa membranelor de nitroceluloză şi amplasate în formă de benzi pentru testare. Fiecare membrană este încorporată într-un corpus din plastic şi conţine un anumit set de alergene pentru testare. Aprecierea rezultatelor se efectuează la aparatul RIDA-X-Screen. Nivelul IgE este apreciat în UI/ml conform claselor redate în tab. 7:

Tabelul 7

Interpretarea rezultatelor aprecierii Ig E

Clasa	Ul/ml	IgE
0	0-0,34	Absentă sau la nivel indetectabil
1	0,35-0,69	Nivel de limită crescut
2	0,7-3,49	Nivel moderat
3	3,5-17,49	Nivel majorat semnificativ
4	17,5-49,99	Nivel înalt
5	50,00-99,99	Nivel foarte înalt
6	>100	Nivel extrem de majorat

Există panouri de testare respiratorie, pediatrică, universală, care permit cercetarea la diferiţi alergeni în diverse combinaţii.

2.6. Nefelometria

Nefelometria se bazează pe formarea de unor complexe antigen-anticorp în soluţie, iar formarea de agregate survine rapid. Concentraţia lor este proporţională cu conţinutul anticorpilor în mostra cercetată.

Aplicaţiile nefelometriei: determinarea concentraţiei de imunoglobuline IgA, IgG, IgM, a subclaselor IgG, fracţiunilor complementului C3c, C4, a proteinei C-reactive cu o exactitate majoră.

2.7 Iimunodifuzia radială în gel

Metoda este aplicată pentru determinarea concentraţiei de imunoglobuline de clasele IgA, IgG, IgM şi a componentelor complementului.

În cazul utilizării imunodifuziei radiale în gel diametrul zonei de precipitare dintre imunoglobulina serică a probei şi serul monospecific anti-Ig respectivă este direct proporţional concentraţiei serice a anticorpilor testaţi din ser.

La interpretarea clinică a rezultatelor testărilor concentraţiei serice a IgM, IgG şi IgA se cere a fi luate în considerare normativele de vârstă şi cele regionale. Modificarea nivelului de Ig în ser poate fi consecinţa dereglărilor de sinteză, catabolism şi eliminare.

Prezenţa factorului reumatoid în mostra de cercetare va diminua concentraţia de IgG graţie faptului că complexele imune (IgG + factorul reumatoid) difundează mai lent comparativ cu moleculele libere ale IgG. În cazul macroglobulinemiei Waldenstrim, pe fond de ataxie-telangiectazie nivelul IgM va fi majorat artificial, deoarece IgM monomeră migrează mai rapid comparativ cu cea pentameră.

Serul pacienţilor cu deficit de Ig A conţine anticorpi anti-proteine de origine animală, de aceea utilizarea serurilor monospecifice anti-IgA obţinute de la animale va rezulta cu concentraţii majorate de IgA.

2.8. Hemiluminescenţa multiplă (MAST)

Metoda hemiluminescenţei multiple este o tehnică modernă, sensibilă şi economă, prin care testarea IgE-specifice se efectuează la un analizator. Alergenele sunt imprimate pe filamentele de celuloză, încastrate într-o cameră de testare din material plastic. Nivelul IgE este reflectat în unităţi luminescente (LU) conform claselor respective.

Exista diverse panouri de testare: universal, alimentar, pentru copii, mixt, care conţin diverse variaţii de alergene pentru cercetare.

2.9. Testarea triptazei.

Metoda de testare a nivelului triptazei (enzima proteolitică specifică a bazofilelor tisulare, care se elimină la degranularea acestora) este un test de perspectivă în diagnosticul alergozelor.

Această enzimă se conţine în granulele bazofilelor şi este eliberată la activarea lor. Este un marcher de specificitate înaltă a mastocitelor, iar nivelul ei în sânge reflectă nivelul de activare a acestora, spre deosebire de histamină, care este rapid metabolizată după eliberarea din celulele activate şi deci modificarea conţinutului acesteia în sânge rămâne practic imperceptibil. Nivelurile majorate de triptază se apreciază pe parcursul a 3 ore după reacţia imediată, ea putând fi decelată în termen de 24 ore. Spre deosebire de histamină, triptaza este detectată în sânge aproximativ peste 15-30 min după contactul cu un alergen. Nivelul majorat al triptazei în sânge confirmă o reacţie generalizată de tip imediat, deşi nivelul normal al ei nu o exclude. După testul de provocare cu alergenul, nivelul triptazei poate fi de asemenea majorat.

Recoltarea sângelui pentru cercetare se recomandă de efectuat pe parcursul primelor 8-12 ore după reacţie._

2.10. Testul pentru determinarea proteinei cationice a eozinofilelor (PCE)

PCE este eliberată în timpul activării eozinofilelor şi se implică în activarea mastocitelor. PCE are proprietăţi toxice pentru helminţi şi unele celule ale organismului. În maladiile alergice nivelul PCE este majorat. În astmul bronşic elevarea PCE este un factor nefavorabil în evoluţia maladiei.

2.11. Testarea complexelor imune circulante (CIC) în sânge

Include metode bazate pe detecţia C3 şi a produselor lui de scindare sau pe legarea complexelor imune cu C1q marcat sau fixat pe suport. Sunt recomandate pentru utilizare ambele variante de identificare a CIC.

Complexele imune se pot detecta pe calea utilizării interacţiunii lor cu receptorul Fc de pe suprafaţa macrofagelor. Testul cel mai utilizat se bazează pe folosirea receptorilor pentru C3b de pe suprafaţa celulelor limfoblastoide transformate *in vitro*.

3. DIAGNOSTICUL MALADIILOR ALERGICE ASOCIATE AFECŢIUNILOR INFECTO-PARAZITARE.

Maladiile alergice (MA) pot fi asociate cu diferite afecţiuni bacteriene, virale, parazitare etc. Au fost descrise forme asociate de alergoze cu *H. pylori,* hepatită virală B, C, D. Mai frecvent sunt depistate MA asociate cu *Ascarida lumbricoideus, Toxocara canis, Lamblia intestinalis* etc

Diagnosticul maladiilor alergice asociate cu parazitoze este un proces laborios şi presupune utilizarea unui complex de metode epidemiologice, clinice şi de laborator:

- anamneza, inclusiv cea alergologică;
- aprecierea obiectivă a simptomaticii clinice;
- hemoleucograma;
- testele cutaneo-alergice şi de provocare cu alergeni;
- aprecierea cantitativă a IgE totale şi a celei alergenspecifice;
- testarea statutului imun cu determinarea cantitativă a populaţiilor şi subpopulaţiilor de limfocite (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20), a

concentraţiei imunoglobulinelor serice de clasele M, G, A şi în special a subclasei IgG4;

- testarea anticorpilor la helminţi, protozoare – *Lamblia intestinalis, Ascarida lumbricoideus, Echinococcus, Toxocara canis* prin utilizarea metodei ELISA
- cercetări parazitologice (coproovoscopia frotiului nativ şi colorat cu soluţie Lugol, metoda de flotare după Kalantarean, în raclatul din pliurile anale etc.)

În baza studiului atent al informaţiilor culese din literatura de specialitate şi a rezultatelor screening-ului pilot realizat prin utilizarea diferitor metode am formulat şi recomandăm spre uz curent un şir de criterii care indică diagnosticul parazitozelor la pacienţii cu maladii alergice:

- anamneza alergologică negativă;
- confirmarea invaziei cu helminţi şi protozoare la alţi membri ai familiei;
- frecventarea instituţiilor preşcolare;
- habitarea în cămine, apartamente comunale;
- absenţa altor tipuri de reacţii alergice precedente primului episod de reacţie alergică;
- remisiunea de scurtă durată de la terapia adecvată a alergozelor;
- toleranţa diminuată a surmenajul fizic;
- rezultatul negativ al testelor cutaneo-alergice cu alergeni de răspândire ubicuitară;
- prezenţa în anamneză a reacţiei alergice la vaccinare;
- eozinofilia (de peste 8%), îndeosebi care persistă în dinamică;
- IgE totală crescută în serul sanguin;
- prezenţa simptomelor de gastroenterită recidivantă sau de maladie a tractusului digestiv.

La prezenţa a 5 şi mai multe din criteriile indicate mai sus este necesar de a administra un control parazitologic corect, iar la depistarea invaziei

parazitare se va aplica o terapie antiparazitară completă. În cazul asocierii a 9 şi mai multe criterii se administrează antihelmintice încă până la obținerea rezultatelor cercetărilor de laborator.

4. PERSPECTIVELE UNUI DIAGNOSTIC MAI PERFORMANT AL MALADIILOR ALERGICE

Obţinerea anticorpilor monoclonali la diferite citochine, chemochine şi molecule adezive va permite descifrarea mecanismelor intime şi foarte complexe de cooperare celulară în declanşarea reacţiei alergice.

Un interes deosebit prezintă metodele care fac uz de reacţiile imunoenzimatice, imunofluorescente şi imunohemiluminescente. Perspective mari se atribuie metodelor bazate pe utilizarea diferitor anticorpi monoclonali pentru determinarea marcherilor limfocitari, a citochinelor, celulelor antigenprezentatoare cu ajutorul flaucitometriei cu laser (*Flow Cytometry).* În perspectivă, pentru diagnosticul reacţiilor alergice ar putea fi utilizată tehnologia ELISPOT. Printre testele imunogenetice se disting ca având posibilităţi mari metodele molecular-biologice de testare a specificităţii genomului, care caracterizează sensibilizarea la alergenul cercetat.

Aprecierea acestor mecanisme va contribui la elaborarea unor principii noi de imunoterapie a maladiilor alergice şi la crearea de preparate inedite şi specifice pentru tratamentul acestora (antagonişti citokinici, inhibitori chemochimici sau care interferează transcripţia genelor, expresia lor etc.). Posibil, că vor deveni teste de suport diferite variante ale metodelor cu radioizotopi, imunoenzimatice, imunofluorescente şi imunohemifluorescente. De considerat perspicacitatea flaucitometriei cu laser multicolor, ca şi a tehnologiei ELISPOT, care după specificitate nu cedează metodelor flaucitometrice.

BIBLIOGRAFIE

1. Andrieş L., Niguleanu V., Rotaru L. Analiza imunoenzimatică în practica medicală: semnificaţie diagnostică şi interpretare clinică // Chişinău, 2002,126 p.

2. Barba D. Urticaria cronica recidivantă ţi starea functionala a ficatului // Autoreferat al tezei de doctor în medicină // Chisinau, 2005, 21 p.

3. Barba D., Butorov I., Andrieş L. Diagnosticul şi tratamentul alergiei alimentare: probleme şi perspective. Recomandare metodică /Chişinău CEPM, 2010, 36 p.

4. Bologa R., Cristea V., Gherman-Ionica N. cu coautorii. Corelaţia între istoricul de alergie şi testele cutanate pozitive la peniciline în cazul alergiei de tip imediat //Clujul Medical 2010 Vol. LXXXIII, nr. 2, p. 318-21.

5. Botnaru V. Bolile aparatului respirator //Firma editorial-poligrafică "Tipografia Centrală", 2001, 637 p.

6. Leru P. Astmul bronşic – 200 întrebări şi răspunsuri.//Bucuresti, Editura Amaltea, 1999.

7. Leru P. Bolile alergice – 450 întrebări şi răspunsuri. //Bucuresti, Editura Curtea Veche, 2006.

8. Mihăescu G. Imunologie şi imunochimie. //Bucuresti, 2003, http://ebooks.unibuc.ro.

9. Onu V. Imunitatea şi alergia. // Chişinău CEPM, 2007 / 447 p.

10. Petrunov B. Current directions of studies for development of methods for specific diagnostics of allergic diseases *in vitro.* //Zh. Mikrobiol, 2008, 3:100-107.

11. Petrunov B. Et ai. The use of Bulgarian atopic allergens with flou cztometric test for quantitative basophil degranulation in sensitized patients. //Clin. Appl. Immunol., 2003, 2:173-181

12. Schifirnet Monica Luiza Testarea cutanata în diagnostic //Bucuresti, 2009; http://www.farmaciiledona.ro.

13. Батурин В.А., Тельбух В.П., Грудина Е.В. Актуальные проблемы диагностики пишевой аллергии. Методические рекомендации. // Ставрополь, 2007, 21 с.

14. Горячкина Л.А., Борзова Е.Ю. Дифференциальная диагностика различных форм крапивницы и отеков Квинк. //Атмосфера. Пульмонология и аллергология. 2004, № 3, с. 8-13.

15. Долгов В.В., Ракова Н.Г., Колупаев В.Е. и др. Иммуноферментный анализ в клинико-диагностических лабораториях. //Москва-Тверь, Триада, 2007, 320 с.

16. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. Москва, 2003, 604 с.

17. Клиническая аллергология //Под ред. Р.М. Хаитова. //Москва, МЕДпресс-информ, 2002, 623 с.

18. Фишер Т., Адельман Д. и др Клиническая иммунология и аллергология // Под ред. Г. Лолора: Пер. с англ. //М.: Практика, 2000, 806 с.

19. Менджерицкий И. М., Сафронова Т. В. Аллергия у детей // Ростов на Дону, Феникс, 1996, 412 с.

20. Митин Ю. А. Методология, задачи и принципы аллергодиагностики *in vitro* // Конференция актуальных проблем инфекционной патологии. СПб., 1993:161-164.

21. Никулин Б.А. Оценка и коррекция иммунного статуса. 2007, 376с.

22. Пинегин Б.В., Пащенков М.В., Мургулин В.В. Мургулина Н.Е. Выявление и харакреризация цитолитических CD8+- и CD8+- Т-клеток. // Иммунология, 2010,1:.4-12.

23. Рёкен М., Греверс Г., Бургдорф В. Наглядная аллергология //Москва, Изд-во Бином. Лаборатория знаний, 2008, 238 с.

24. Рыжикова С.Л., Дружинина Ю.Г., Рябичева Т.Г. и др. Продукция цитокинов клетками крови как показатель напряженности поствакцинального иммунитета. //Цитокины и воспаление, 2009, 8(1): 57-61.

25. Хаитов Р.М., Ильина Н.И Национальное руководство. Аллергология и иммунология. 2009, 656 с.